

86-172175/27 NIPPON KAYAKU KK (YAMAS) 27.10.84-JP-226038 (22.05.86) A61k-09/08 A61k-31/73 Interferon-inducing injections prepn. - by blending poly:riboinosinic acid-poly ribocytidylc acid aq. soln. and poly-L-lysine and heating C86-073962	B04 NIPK 27.10.84 *J6 1103-824-A	B(4-B4A1, 12-A6, 12-G7) 3
Full Patentees: Nippon Kayaku KK; Yama Shoyu KK Prepn. of poly-riboinosinic acid/poly-ribocytidylc acid/poly-L-lysine complex (poly(ICL))-contg. injection comprises blending an aq. soln. of poly-riboinosinic acid/poly-ribocytidylc acid (poly(I)/poly(C)) with poly-L-lysine and then heating the resulting mixt. to sterilize.	EXAMPLE Poly(ICL) is effective as an interferon-inducer and is expected to be useful as carcinostatic. It is highly transparent and is stable and may be obtd. simply by blending the components. COMPOSITION The molar ratio of poly(I) to poly(C) is 0.8-2/1, pref. 1/1. A powdery poly-L-lysine is directly blended with the poly	(I)/poly(C)-aq. soln., of the poly-L-lysine is first dissolved in water, and the resulting aq. soln. is blended with the poly (I)/poly(C)-soln. In the latter case, the poly-L-lysine aq. soln. to be added pref. has a concn. of 0.2-2.0 mg/ml. The ratio of poly(I)/poly(C) to poly-L-lysine is 1/0.3-1.0 pref. 1/0.5-0.7, which is a molar ratio of the phosphate in the former to the amino gp. in the latter.

J61103824-A

© 1986 DERWENT PUBLICATIONS LTD.
128, Theobalds Road, London WC1X 8RP, England
US Office: Derwent Inc. Suite 500, 6845 Elm St. McLean, VA 22101
Unauthorised copying of this abstract not permitted.

③Int.Cl.
A 61 K 9/08
31/73

識別記号

庁内整理番号

6742-4C
7252-4C

④公開 昭和61年(1986)5月22日

審査請求 未請求 発明の数 1 (全5頁)

⑤発明の名称 ポリリポイノシン酸・ポリリボシチデル酸・ポリ-L-リジン複合
体の注射用製剤の新規調製法

⑥特願 昭59-226038
⑦出願 昭59(1984)10月27日

⑧発明者 大熊 高明	東京都中野区沼袋2-1-10
⑨発明者 鈴木 信太郎	東京都大田区南千束3-7-10
⑩発明者 町田 治彦	鎌子市栄町2-2-2
⑪出願人 日本化薬株式会社	東京都千代田区丸の内1丁目2番1号
⑫出願人 ヤマサ醤油株式会社	鎌子市新生町2丁目10番地の1
⑬代理人 弁理士 竹田 和彦	

明細書

1. 発明の名称

ポリ(ICL)注射用調製法。

2. 特許請求の範囲

ポリリポイノシン酸・^{の水溶}ポリリボシチデル酸に
ポリ-L-リジンを混合した後加熱処理すること
を特徴とするポリリポイノシン酸・ポリリボシチ
デル酸・ポリ-L-リジンの複合体注射用調製法。

3. 発明の詳細な説明

〔臨床上の利用分野〕

本発明は、インターフェロン誘発物質のポリリ
ポイノシン酸・ポリリボシチデル酸・ポリ-L-リ
ジン複合体(以下ポリ(ICL)といふ。)の
注射用調製法を調製する新規な方法に関するもの
である。

〔従来技術〕

ポリリポイノシン酸・ポリリボシチデル酸(以下
ポリ(I)・ポリ(C)といふ)はインターフ

エロン(以下 IAFN といふ)の誘発物質としてよ
く知られている。しかしながら、ポリ(I)・ポ
リ(C)はヒトなどの腫瘍細胞ではその IAFN 誘発
活性が低いと報告されている。この原因は、腫瘍
細胞では血中のリボヌクレアーゼ活性が高く、ポリ
(I)・ポリ(C)が投与された後直ちにこの酵
素によつて分解されるためであるといわれている。
ポリ(I)・ポリ(C)の核酸分解酵素による分
解を防止するために、いくつかのポリ(I)・ポ
リ(C)の塩基性物質との複合体が開発されてき
た。ポリ(ICL)もその一つである。ポリ(ICL)
はヒトおよびサルで強力な IAFN 誘発活性
が報告されており、また IAFN がいくつかの腫瘍
に対して抗腫瘍効果を示すことが報告されている
ことから、ポリ(ICL)の剤がん剤としての用
途も期待されている。

ポリ(ICL)はポリスクリオナドとポリベグ
ナドの複合体でありポリスクリオナドとポリベグ
ナドの混合時、不溶性の沈殿を生じやすいため、
従来常温で長時間をかけて混合する製造法が行わ

(I) といふ) 水溶液とポリ(リボンチアル酸)以下
ポリ(C)と()水溶液とを搅拌混合した後室温
でポリーリジン(以下ポリーリジンといふ)
をゆっくり滴下し、24時間ゆっくり搅拌しながら
放置し、次いで5%塩化ナトリウムを加え更に
室温で1~2日搅拌放置する方法(Proc. Soc. Exp.
Biol. Med. 第169巻 183~188頁(1982))
および室温で等強性のベヒクルを混合して透明な
溶液を得る方法(特許昭56-53621号公報)
等が知られている。

[発明が解決しようとする問題点]

従来法ではポリ(ICL)の溶液を得るために
数日間を要し、かつこれ等の方法を用いた調製法
で得られる溶液は外観において不透明であつたり、
外観において透明である場合でも余薦が可能な孔
径のフィルターを用いてろ過することは不可能で
あるため、注射用製剤を製するにはポリ(I)
・ポリ(C)の水溶液およびポリーリジン水溶液
をそれぞれ余薦ろ過したのち、完全に無菌の環境

(I)およびポリ(C)は沈降定数が4.9~11
Sのものが好きしく、通常ナトリウム塩の形で用
いられる。

ポリ(I)・ポリ(C)溶液へのポリーリジン
の混合は、ポリ(I)・ポリ(C)水溶液に粉末
状のポリーリジンを直接混合するか、またはポリ
ーリジンをあらかじめ水溶液とした後混合する。
著者の場合、ポリーリジン水溶液は0.2mg/ml~
2.0mg/ml程度の水溶液として混合するのが好
しい。

ポリ(I)・ポリ(C)とポリーリジンとの割
合はポリ(I)・ポリ(C)のリン酸基とポリ
ーリジンのアミノ基のモル比で1:0.5~1.0、好
きしくは1:0.5~0.7である。

本発明で使用されるポリーリジンは通常臭化水
素鉄塩または塩基性の形で使用される。塩として
の平均分子量は通常5,000~50,000好ましくは
10,000~50,000。本発明における加
熱処理は通常成形下にポリ(I-C-N)の吸収熱強
解点以下約40~110℃で、好きしくは70~

し問題点は解決されたものとす

ので、本発明者等は、かかる欠点を有しない
ポリ(ICL)の注射用製剤の調査を試み検討した
結果、意外にも、ポリ(I)・ポリ(C)の水
溶液とポリーリジンの水溶液を混合した後加熱処
理するならば、透明性の良好な、かつ余薦ろ過が
可能なポリ(ICL)の注射用製剤が短時間で容
易に得られることを発見し、本発明を完成するに
至つた。

本発明で使用するポリ(I)・ポリ(C)の水
溶液は、ポリ(I)とポリ(C)のモル比が通常
0.8~2モル:1好ましくは1:1になるよう
にポリ(I)とポリ(C)を注射用蒸留水に直接溶
かすか、ポリ(I)の水溶液とポリ(C)の水溶
液を混合するか、あらかじめ凍結乾燥等で調製さ
れたポリ(I)・ポリ(C)を注射用蒸留水に溶
かし、好きしくはその濃度が0.5~3.0mg/mlで
なるよう調製することにより得られる。

ポリ(I)・ポリ(C)水溶液に用いるポリ

90℃の温度範囲で行われ、加熱時間は処理温度
にもよるが通常40分~24時間、好きしくは10
~60分間の範囲である。

本発明で得られるポリ(ICL)の水溶液は
滅菌剤または等強化剤例えば無鉄塩類または(おこ
び)硝酸を含んでもよく、これらを含む場合はポ
リ(I)・ポリ(C)とポリーリジンを混合した後、
溶液に温熱または(および)硝酸を加えるのが好
しい。この際、より透明性が高く、うろこ生
の良い溶液を得るには、NaClなどの無鉄塩類は
できるだけ少ないか又は加えないほうがよく、また
等強化をはかる目的ではアドク塩、マニシトール
などの糖類を加える方が好ましい。

得られたポリ(ICL)水溶液を無菌化の処理
を行う場合は常法に従つて行うことができ、例え
ば余薦用のノンブランフィルターを用いてろ過
(余薦ろ過)し、放置した容器に密封するか、ま
たは密封した後80~100℃で24時間ごとに
30~60分間加熱する(簡易加熱)ことによつ
て行われる。

る。

実施例 1

沈降定数 6 S のポリ (I) と 9 S のポリ (C) の等モルよりなる、ポリ (I)・ポリ (C) のナトリウム塩の凍結乾燥物を注射用蒸留水に溶解し、ポリ (I)・ポリ (C) のナトリウム塩として 2.0 メ／ml の水溶液となるように調製する。別に分子量 32,000 のポリーリジンの臭化水素・酸塩を注射用蒸留水に溶解しポリーリジンの臭化水素塩として 1.0 メ／ml の水溶液となるように調製する。次に、ポリ (I)・ポリ (C) の水溶液とポリーリジンの水溶液を 5 : 3.7 の体積比で混合し搅拌する。調製したポリ (ICL) の水溶液を 80 ℃ で 30 分間ゆっくり搅拌しながら加熱処理を行う。加熱処理後、0.45 ミクロンのメンブランフィルターでろ過し、滅菌したガラス容器に密封し注射剤とする。

実施例 2

沈降定数 6 S のポリ (I) と 9 S のポリ (C)

リウム塩の凍結乾燥物を注射用蒸留水に溶解し、ポリ (I)・ポリ (C) のナトリウム塩として 2.0 メ／ml の水溶液となるように調製する。別に、分子量 32,000 のポリーリジンの臭化水素・酸塩を注射用蒸留水に溶解しポリーリジンの臭化水素塩として 1.0 メ／ml の水溶液となるように調製する。ポリ (I)・ポリ (C) 水溶液とポリーリジン水溶液を 5 : 4 の体積比で混合し、ポリ (I)・ポリ (C) とポリーリジンのモル比が 1 : 0.65 のポリ (ICL) 水溶液となるように調製する。調製した水溶液を 80 ℃ で 30 分間、加熱処理し、30 ℃ に加熱下 0.45 ミクロンのメンブランフィルターでろ過する。ろ過液を滅菌したガラス容器に密封し注射剤とする。

〔効 果〕

下記試験例から明らかのように、本発明で得られるポリ (ICL) は透明性及びろ過性ともによく、リボスクレアーゼ (RNase) 抵抗性は加熱処理前のものとはほとんど変わらないものであることが判る。

リウム塩の凍結乾燥物を注射用蒸留水に溶解し、ポリ (I)・ポリ (C) のナトリウム塩として 2.0 メ／ml の水溶液となるように調製する。別に、分子量 32,000 のポリーリジンの臭化水素・酸塩を注射用蒸留水に溶解し、ポリーリジンの臭化水素塩として 1.0 メ／ml の水溶液となるように調製する。次に、ポリ (I)・ポリ (C) の水溶液とポリーリジンの水溶液を 5 : 4 の体積比で混合し、ポリ (I)・ポリ (C) とポリーリジンのモル比が 1 : 0.65 のポリ (ICL) 水溶液となるように調製する。更に、このポリ (ICL) 水溶液に 1.0 塩化ナトリウム水溶液を 9 : 1 の体積比で攪拌混合する。調製したポリ (ICL) の水溶液を 80 ℃ で 30 分間、加熱処理を行う。加熱処理後、0.45 ミクロンのメンブランフィルターでろ過し、滅菌したガラス容器に密封し注射剤とする。

実施例 3

沈降定数 6 S のポリ (I) と 9 S のポリ (C) の等モルよりなるポリ (I)・ポリ (C) のナト

試験例 1 本発明で得られるポリ (ICL) の分子量分布の測定

本発明の実施例 1 で得られたポリ (ICL) の分子量分布を硫酸密度勾配遠心法により測定した、また対照として実施例 1 において加熱処理する前のポリ (ICL) の分子量分布を同様に測定した。その結果を第 1 図および第 2 図に示す。

試験例 2 本発明で得られるポリ (ICL) の透明性、ろ過性、およびリボスクレアーゼ (RNase) 抵抗性の測定

- (1) 透明性：波長 420 nm における透光率 (%) を第 1 表に示した。
- (2) ろ過性：孔径 0.45 ミクロンのメンブランフィルターでろ過したときの含水量の回収率 (%) を第 1 表に示した。
- (3) RNase 抵抗性：

ポリ (ICL) 製成にリン酸緩衝生理食塩水を加え、ポリ (I)・ポリ (C) の濃度にして 3.049 メとなるように調製した。この試験液：9.9 ml をとり、牛脳膜スクレアーゼ

反応させた。スクレアーゼによる分解に伴ない λ_{248} における吸光度(OD₂₄₈)が上昇するので、反応前後の反応液のOD₂₄₈を測定し、反応後のOD₂₄₈の増加率(%)を算出してRNase 抵抗性を示した。

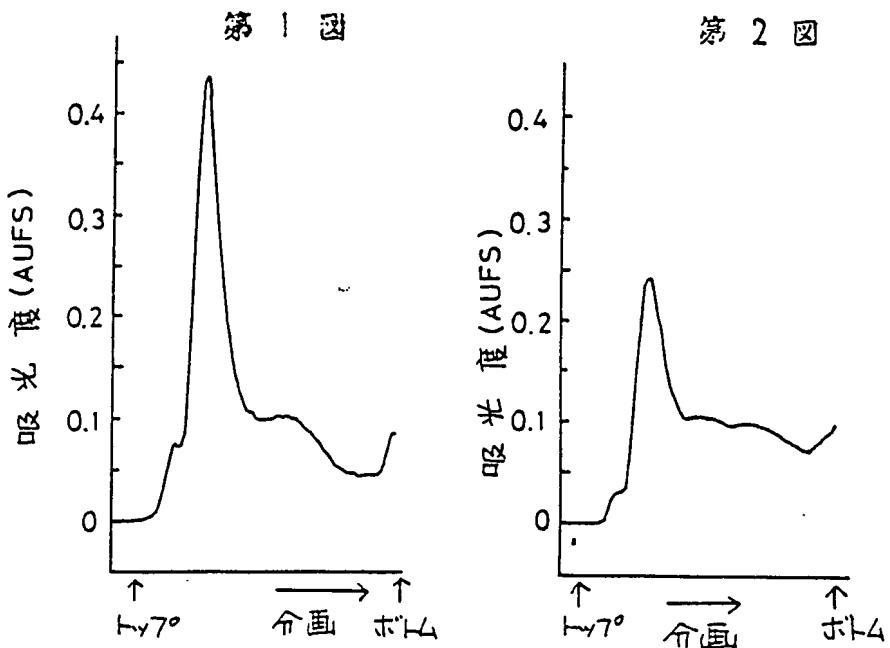
なお対照として、ポリ(I)・ポリ(C)の水浴液(実験例1で使用したもの：2% / 40度)かおよび実験例1でポリ(I)・ポリ(C)水浴液とポリーリジン水浴液を混合して得られた加熱処理前のポリ(ICL)について上記と同様に證明生、ろ過性かおよびRNase 抵抗性を測定し、その結果を表1に示した。

項目 試料	強弱性 (%)	ろ過性 (回収率 %)	RNase 抵抗性 (OD ₂₄₈ 増加率%)
本発明 実験例1	79.3	97.1	9.9
本発明 実験例2	99.1	95.1	9.4
本発明 実験例3	99.1	99.6	9.1
対照1 (ポリ(I)・ポリ(C))	99.7	99.9	63.8
対照2 (加熱処理前)	96.5	62.4	- 9.6

4. 図面の簡単な説明

第1図および第2図は原液密度勾配遠心法による分子量分布を示す。第1図は80℃30分間の加熱処理後のポリ(ICL)(本発明方法によるもの)であり、第2図は加熱処理前のポリ(ICL)である。

特許出願人 日本化誠株式会社
ヤマナ香油株式会社



特許庁長官 貢子成

1. 事件の表示
昭和59年特許出願第226038号
2. 発明の名称
「ポリリボイノシン酸・ポリリボシチル酸・ポリーレーリジン混合体の庄附用製剤の新規調製法」
3. 納正をする者
事件との関係 特許出願人
東京都千代田区富士見一丁目11番2号
(400) 日本化薬株式会社
代表者 取締役社長 坂野常和
千葉県流山市新生町2丁目10番地の1
ヤマサ醸造株式会社
代表者 須口道雄
4. 代理人
東京都千代田区富士見一丁目11番2号
日本化薬株式会社内
(4126) 井原士 竹田和男
5. 納正命令の日付
昭和60年2月6日
6. 納正により追加する発明の数
なし
7. 納正の対象
既存の発明の名称のほかおよび明細書が発明の名称のほか
8. 納正の内容
別紙の通り

方式
審査

60.3.9

1. 特許庁の発明の名称「ポリ(イコシ)庄附用
製剤の新規調製法」を「ポリリボイノシン酸・
ポリリボシチル酸・ポリーレーリジン混合体
の庄附用製剤の新規調製法」と訂正する。
2. 明細書第1頁の発明の名称「ポリ(イコシ)
庄附用製剤の新規調製法」を「ポリリボイノシン
酸・ポリリボシチル酸・ポリーレーリジン
混合体の庄附用製剤の新規調製法」と訂正する。